

細胞外微粒子放出動態の 1 細胞イメージング

(東大院薬¹) ○白崎 善隆¹

Single-cell imaging of release activity of extracellular vesicles (¹*Graduate School of Pharmaceutical sciences, The university of Tokyo*) ○Yoshitaka SHirasaki¹

The response of the organism is highly regulated through various intercellular messengers. In recent years, a variety of endogenous and exogenous fine particles have also come to be known as these messengers. Endogenous fine particles include extracellular vesicles (EVs) with lipid membranes, nucleic acid particles, and oil droplets. The biogenesis mechanism and biological response analysis of these fine particles have been studied in vivo using laboratory animals and in vitro using a large number of cultured cells. However, for understanding how the diversified fine particles are produced, it is necessary to analyze them in association with the diversity of cellular states. We have developed LCI-S (Live Cell Imaging of Secretion activity) to visualize the diversity of the production dynamics of messenger molecules in single cells. In this study, we applied LCI-S to EVs, one of the endogenous fine particles. By comparing the characteristics of EV release from individual cells, we found not only a variety of quantities of EVs among cells, but also a variety of release activities depending on the state of the producing cells.

Keywords : *Extracellular vesicles; Single-cell imaging; LCI-S*

生体の応答は、様々な細胞間メッセンジャーを介して高度に制御されている。近年、内因性、外因性の様々な微粒子もこのメッセンジャーとして知られるようになった。内因性の微粒子としては、脂質二重膜に包まれたエクソソームなどの細胞外小胞 (EVs) や Cell free DNA などの核酸粒子、油滴などが挙げられる。これらの微粒子の産生機序や微粒子に対する生体応答解析は、実験動物を用いた in vivo 試験や多数の培養細胞を用いた in vitro 試験が行われている。しかしながら、多様な微粒子がどのように産生されているのかを理解するためには、多様性に富む細胞の状態と付き合わせて解析する必要がある。

我々はこれまでに 1 細胞の分泌を実時間で観察する手法 LCI-S (Live Cell Imaging of Secretion activity) を開発し、様々な細胞が示すメッセンジャー分子の産生動態の可視化を実施してきた。本研究では、この LCI-S を内因性微粒子の一つである EV に適応した。個々の細胞からの EV の放出動態を比較したところ、細胞間において量的な多様性が見られただけでなく、産生細胞の状態に依存した多様な産生動態を見出すことができた。

1) Microfluidic Immunoassays for Time-Resolved Measurement of Protein Secretion from Single Cells. M. Yamagishi, O. Ohara, Y. Shirasaki, *Annu Rev Anal Chem.* 13(1):67-84(2020)